

# 新疆荒漠束颈蝗属及其近、远缘种的线粒体 DNA RFLP 与系统进化\*

邵红光\*\* 严 健 庚镇城

李国强 黄人鑫

(复旦大学遗传学研究所, 上海 200433)

(新疆大学生物学系, 乌鲁木齐 830046)

**摘要** 以 11 种限制性内切酶对新疆荒漠中的 9 种束颈蝗和与其近缘的细距蝗 *Leptopternis gracilis*, 旋跳蝗 *Helioscirtus moseri moseri* 及远缘的意大利蝗 *Calliptamus italicus italicus*, 红翅瘤蝗 *Derocorys roseipennis* 的线粒体 DNA 进行了长度片段多态性的研究。根据所得的酶切类型, 计算了种间每核苷酸位点的平均碱基取代值  $P$  (遗传距离)。用 UPGMA 法构建分子系统树。结果表明, 束颈蝗属种间的  $P$  值约为 0.099~0.146, 与近缘种属间约 0.100~0.205, 与远缘种属间约为 0.113~0.206。估算出束颈蝗属种间的分歧年代约在 1 000~1 500 万年前, 处于中新世中期, 将实验结果与形态演化比较分析, 探讨束颈蝗的系统进化。

**关键词** 束颈蝗属, 线粒体 DNA 变异, 系统进化

动物的线粒体 DNA (mtDNA) 的进化速率是单拷贝核 DNA (scnDNA) 的 5~10 倍<sup>[1,2]</sup>, 基因组为单拷贝, 无基因间隔区 (spacer) 和内含子, 没有核 DNA 分析时常会遇到的功能不清的片段, 亦无倒位, 易位等畸变与重组。目前对果蝇 *Drosophila yakuba*, 飞蝗 *Locusta migratoria* 等 5 种昆虫的线粒体 DNA 已作全序列测定<sup>[3,4]</sup>, 对草地雏蝗 *Chorthippus parallelus* 线粒体 DNA 基因组中的多个基因也已作序列分析<sup>[5~7]</sup>, 线粒体 DNA 的母系遗传特性用于群体分析时十分有效。因具以上特点, mtDNA 被广泛用于昆虫及其它动物群体的进化研究上。

mtDNA 的变异可以用限制性片段长度多态性 (RFLP) 和核苷酸序列碱基置换的平均值来检测, 虽然利用后者可能获得更多的信息, 但 RFLP 分析仍以其简便, 快速, 实用的特点而被普遍应用于群体遗传变异的研究中<sup>[8]</sup>。从分子水平研究昆虫的进化生物学, 既有助于我们确定昆虫种类的分类地位, 理清种间及种内的系统发生关系, 又能利用进化的分子钟, 追溯进化的历史。

在蝗虫的研究上, Chapco 等<sup>[9,10]</sup>就北美黑蝗属 *Melanoplus* 种间的 mtDNA 变异及 *Melanoplus sanguinipes* 的种内 mtDNA 的遗传多态性进行了研究, 对种间系统发育及种内遗传变异作了颇富新意的探讨, 根据 DNA 序列中核苷酸取代速率推算出该属的分化年代。

束颈蝗属 *Sphingonotus* Fieber 是斑翅蝗亚科 Oedipodinae 中最大的属, 迄今已知 75 种,

\* 国家自然科学基金资助项目

\*\* 现通讯地址: 中国科学院上海昆虫研究所, 邮编: 200025

1997-03-25 收稿, 1998-06-10 收修改稿

加之亚种和地理宗，数目逾百。主要分布于北非、中东、中亚和我国的荒漠-半荒漠地区，属于广泛而不连续的分布类型<sup>[11]</sup>。束颈蝗是典型的荒漠种类。几乎所有种类的栖息景观均为植被稀疏的平原或山前荒漠地段，有趣的是，许多种类只与特定的荒漠类型发生联系，因而可用作特异性的指示昆虫来确定不同的荒漠类型。形态分类学研究表明，该属的后翅无暗纹类在分类上尤为困难，须作多个标本的比较方可准确鉴定，种内存在与其生境密切相关的多态现象<sup>[12]</sup>。Правдин и Мищенко（1980）通过对其地理分布和地质变迁的分析，认为束颈蝗属为“大西洋起源”（Atlantidean Stock），推测不晚于第三纪初期<sup>[13,14]</sup>。

新疆地处内陆干旱区，是我国束颈蝗种类最丰富的地区，种类中以中亚种和特有种居多（占 54.4%）。束颈蝗在形态分类，地理分布和生态学上已有不少研究<sup>[15~18]</sup>。从分子水平对束颈蝗系统进化的研究，尚未见报道。我们研究了新疆荒漠束颈蝗属 9 个种的 mtDNA 遗传差异，并与其近缘及远缘属的种类进行比较，探讨束颈蝗属的进化关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料的采集

本研究所用的蝗虫均采自新疆准噶尔盆地北部及东部荒漠（表 1）。至实验前材料均贮存在液氮或 -80℃ 冰箱中。

1.2 mtDNA 的提取与纯化

取经形态学准确鉴定的同种 3~5 只个体，匀浆，实验步骤参照王文（1993）<sup>[19]</sup> 和 贾振宇（1995）等<sup>[20]</sup>的方法，稍作修改。

1.3 mtDNA 样品的酶解和电泳检测

使用的 11 种 6 bp 识别序列的限制性内切酶均购自华美生物工程有限公司。各种限制性内切酶的使用均参照说明进行。酶切在 37℃ 下进行 3h 以上，加 EDTA 终止反应。用 1.0% 琼脂糖平板凝胶，Tris-磷酸缓冲液，电压 3V/cm，电泳 8~10 h，溴化乙锭（EB）染色，分子标记为 λDNA/HindIII，紫外灯下拍照，分析。

1.4 数据分析

按照 Nei 和 Li（1979）<sup>[21]</sup>的公式，计算物种间限制性片段共享度  $F$ ：

$$F = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$$

式中  $n_x$ ， $n_y$  为物种  $x$  和物种  $y$  的限制性片段数， $n_{xy}$  为两物种之间相同的酶切片段数。再计

表 1 实验用蝗虫的种类和采集地

Table 1 Species and locality of locusts used in this study

种类 Species	采集地 Locality
黑翅束颈蝗 <i>S. obscuratus latissimus</i>	克拉玛依
岩石束颈蝗 <i>S. nebulosus violascens</i>	博乐，奎屯
黄胫束颈蝗 <i>S. savignyi</i>	博乐
瘤背束颈蝗 <i>S. salinus</i>	奇台将军戈壁
雅丽束颈蝗 <i>S. elegans</i>	博乐
石砾束颈蝗 <i>S. maculatus patraeus</i>	乌鲁木齐南郊
如红束颈蝗 <i>S. rubscens rubscens</i>	乌鲁木齐西山
碱土束颈蝗 <i>S. halocnemi</i>	塔城
二纹束颈蝗 <i>S. bifasciatus</i>	乌鲁木齐南郊
其它对照种	
旋跳蝗 <i>Helioscirtus moseri moseri</i>	玛纳斯
细距蝗 <i>Leptopternis gracilis</i>	石河子
意大利蝗 <i>Calliptamus italicus italicus</i>	乌鲁木齐西郊
红翅瘤蝗 <i>Dericorys roseipennis</i>	精河艾比湖

算每一个位点的平均碱基置换度  $P$ ：

$$P \approx 1 - \{[(F^2 + 8F)^{1/2} - F]/2\}^{1/r}$$

其中  $r$  为限制性内切酶识别序列数， $P$  值可代表物种间的遗传距离，利用 UPGMA 法聚类分析，用 MEGA 1.01 (1993) (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Version 1.01) 软件<sup>[22]</sup>构建分子系统树。

根据遗传距离与进化时间的关系式<sup>[23]</sup>可估算种间的分歧时间。

2 结果

束颈蝗属的 9 个种和其斑翅蝗亚科 (Oedipodinae) 中的近缘属种类旋跳蝗 *Helioscirtus moseri*，细距蝗 *Leptopternis gracilis* 及斑腿蝗亚科 (Catantopinae) 中的意大利蝗 *Calliptamus italicus*，红翅瘤蝗 *Dericorys roseipennis* 的 mtDNA 限制性内切酶电泳图如图 1 所示。由标准分子曲线对照计算出的 13 种蝗虫的 mtDNA 分子均为约 16.3 kb。

经 6 bp 识别序列的 *Sca*I, *Eco*RV, *Bgl*II, *Hind*III, *Hpa*I, *Dra*I, *Pst*I, *Xba*I, *Pvu*I, *Eco*RI 和 *Acc*I 11 种限制性内切酶作用于不同种的 mtDNA 样品，获得不同的限制性酶切类型 (表 2)。根据不同种的 mtDNA 酶切反应所得到的不同限制性类型。我们计算了 13 种蝗虫间的遗传距离 (表 3)，即种间的每核苷酸位点的平均碱基取代值。可以看出，束颈蝗属内种间的遗传距离较近，为 0.099~0.146，与近缘的旋跳蝗属，细距蝗属的种类比较，其间的遗传距离为 0.100~0.205，而与亲缘关系较远的斑腿蝗亚科中的意大利蝗和红翅瘤蝗相比，其间的遗传距离则较远为 0.113~0.206，据此构建了这 13 个种的分子系统树 (图 2)。

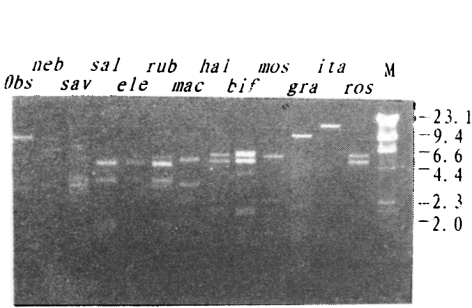


图 1 13 种蝗虫的 mtDNA 限制性内切酶 (*Acc*I) 酶切电泳图谱

Fig.1 The electrophoresis patterns of mtDNA of the 13 locusts species digested with restriction endonuclease (*Acc*I) λDNA/*Hind* III markers

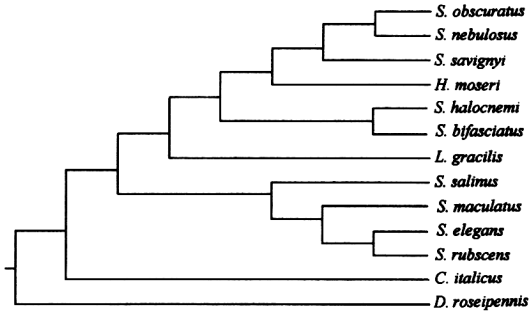


图 2 13 种蝗虫的 UPGMA 分子系统树

Fig.2 Phylogenetic tree for the 13 locusts species by the UPGMA method

根据通常假设并采用的 mtDNA 每百万年的平均碱基突变速率为 1.0% 估算<sup>[24]</sup>，束颈蝗属种间分歧约 1 000~1 500 万年，与近缘属种的分歧为 1 000~2 050 万年前，而与远缘属种的分歧时间约为 1 100~2 060 万年前。

表 2 不同种的 mtDNA 的酶切片段的类型和片段大小

Table 2 Restriction fragment patterns and sizes in the species

酶 Enzyme	类型 Patterns	片段大小 (bp) Fragment sizes (bp)	种 * Species
Sca I	A	7500, 5400, 3200	<i>ele, rub, mac</i>
	B	11000, 4400, 600	<i>ita</i>
	C	14200, 1900	<i>obs, sav, mos</i>
	D	10500, 5600	<i>hal, gra</i>
	E	14700, 1300	<i>ros</i>
	F	16300	<i>neb, sal, bif</i>
EcoRV	A	6600, 5500, 3200	<i>mos, ros</i>
	B	10500, 6000	<i>obs</i>
	C	9000, 6400	<i>rub, mac</i>
	D	16300	<i>neb, sav, sal, ele, hal, bif, gra, ita</i>
Bgl II	A	7600, 2000, 1200	<i>ros</i>
	B	8000, 6900, 1000	<i>ita</i>
	C	10500, 5000	<i>obs, neb, rub, mac, hal, bif, mos, gra</i>
	D	16300	<i>sav, sal, ele</i>
Hind III	A	15500, 600	<i>obs, neb</i>
	B	9400, 7100	<i>mac, haf</i>
	C	16300	<i>sav, sal, ele, rub, bif, mos, gra, ita, ros</i>
Hpa I	A	10500, 2400, 1800, 1500	<i>obs, neb, sav, mos, hal, bif</i>
	B	7100, 4400, 2000, 1800	<i>gra</i>
	C	8100, 5100, 2800	<i>sal, ele, rub, mac</i>
	D	11000, 3400, 2200	<i>ros</i>
	E	16300	<i>ita</i>
Dra I	A	10300, 6200	<i>obs, neb, sav, sal, mac, hal, mos, gra</i>
	B	16300	<i>ele, rub, bif, ita, ros</i>
Pst I	A	16300	<i>sal, ele</i>
	B	uncut	<i>obs, neb, sav, rub, mac, hal, bif, mos, gra, ita, ros</i>
Xba I	A	8500, 2600, 1900, 1700	<i>ele, rub, mac, hal, bif</i>
	B	7300, 4400, 3100, 1200	<i>ita, ros</i>
	C	16300	<i>obs, neb, sav, sal, ele, rub, mac, hal, bif, mos, ita, ros, gra</i>
Pvu II	A	12200, 3900	<i>gra</i>
	B	16300	<i>obs, neb, sav, sal, ele, rub, mac, hal, bif, mos, ita, ros</i>
EcoRI	A	7500, 6500, 1400, 600	<i>obs, bif, mos</i>
	B	8200, 6400, 1100, 800	<i>neb, sav, rub</i>
	C	8000, 6800, 1200	<i>gra</i>
	D	8200, 6000	<i>sal</i>

表 2 (续) Table 2 (Continued)

酶 Enzyme	类型 Patterns	片段大小 (bp) Fragment sizes (bp)	种* Species
Acc I	E	8300, 7600	<i>ele, mac, ita</i>
	F	11500, 5200	<i>hal</i>
	G	16300	<i>ros</i>
	A	5600, 3600, 1800, 1700, 1600, 900	<i>ele, rub</i>
	B	5800, 3400, 2500, 2000, 1400, 900	<i>hal</i>
	C	3500, 3200, 2700, 2400, 1700, 1500	<i>sal</i>
	D	5700, 2800, 1800, 1700, 900	<i>gra</i>
	E	9000, 3400, 2700, 1800	<i>neb</i>
	F	6200, 5300, 3900, 1800	<i>ros</i>
	G	6400, 3300, 2400, 2000	<i>sav</i>
	H	11300, 2700, 1600	<i>obs</i>
	I	6000, 5300, 3900, 1800	<i>bif, mos</i>
	J	5600, 4800, 3300, 3100	<i>mac</i>
	K	16300	<i>ita</i>

\* 以种名的前三个字母代表; Letter represent the first three letters of the species name

表 3 由共享片段数 *F* (右上) 计算出的不同种间的遗传距离 *P* (左下)  
Table 3 Genetic distance (*P*) among the species (lower left) on the proportion  
of fragments shared (*F*) (upper right)

种 Species		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. 黑翅束颈蝗	<i>S. obscuratus</i>		0.533	0.727	0.279	0.085	0.120	0.213	0.375	0.455	0.489	0.233	0.050	0.089
2. 岩石束颈蝗	<i>S. nebulosus</i>	0.099		0.605	0.333	0.087	0.286	0.174	0.426	0.372	0.455	0.286	0.356	0.045
3. 黄胫束颈蝗	<i>S. savignyi</i>	0.100	0.099		0.341	0.178	0.250	0.133	0.348	0.333	0.512	0.195	0.273	0.158
4. 瘤背束颈蝗	<i>S. salinus</i>	0.115	0.109	0.108		0.409	0.255	0.318	0.178	0.146	0.238	0.250	0.162	0.095
5. 雅丽束颈蝗	<i>S. elegans</i>	0.165	0.168	0.133	0.104		0.706	0.417	0.245	0.356	0.043	0.091	0.293	0.130
6. 如红束颈蝗	<i>S. rubscens</i>	0.151	0.114	0.119	0.118	0.099		0.588	0.308	0.375	0.163	0.128	0.136	0.122
7. 石砾束颈蝗	<i>S. maculatus</i>	0.125	0.134	0.146	0.111	0.103	0.099		0.449	0.311	0.217	0.182	0.146	0.043
8. 碱土束颈蝗	<i>S. halocnemi</i>	0.106	0.103	0.108	0.133	0.120	0.112	0.102		0.522	0.383	0.311	0.095	0.043
9. 二纹束颈蝗	<i>S. bifasciatus</i>	0.102	0.106	0.109	0.142	0.107	0.106	0.111	0.100		0.512	0.195	0.211	0.140
10. 旋跳蝗	<i>H. moseri</i>	0.100	0.102	0.100	0.121	0.205	0.137	0.124	0.105	0.100		0.286	0.489	0.409
11. 细距蝗	<i>L. gracilis</i>	0.122	0.114	0.129	0.119	0.165	0.148	0.132	0.111	0.129	0.114		0.186	0.048
12. 意大利蝗	<i>C. italicus</i>	0.197	0.159	0.138	0.137	0.113	0.145	0.142	0.163	0.126	0.159	0.157		0.100
13. 红翅瘤蝗	<i>D. roseipennis</i>	0.167	0.203	0.164	0.163	0.147	0.150	0.205	0.206	0.144	0.104	0.200	0.204	

3 讨论

从 UPGMA 方法得到的分子系统树上可看出, 隶属斑腿蝗亚科 Catantopinae 的意大利蝗 *Calliptamus italicus italicus* 和红翅瘤蝗 *Dericorys roseipennis*, 与隶属于斑翅蝗亚科 Oedipodi-

nae 的束颈蝗属和细距蝗属 *Leptopternis*, 旋跳蝗属 *Helioscirtus* 在亲缘关系上较远, 说明形态学与 mtDNA 的研究结果一致。从 mtDNA 分子系统树上看, 红翅瘤蝗比意大利蝗的分歧要更早些。

细距蝗属和旋跳蝗属在形态上与束颈蝗属相近, 被认为是束颈蝗的近缘属<sup>[13]</sup>。与束颈蝗的栖息地相比, 细距蝗在红柳沙丘地段更为常见, 旋跳蝗的栖息景观则几乎与束颈蝗重合, 更多地见于有梭梭 *Haloxylon ammodendron*, 碱蓬 *Suaeda* spp. 等稀疏植被覆盖或几乎完全裸露的砾石戈壁。在 mtDNA 分子系统树上显示出旋跳蝗、细距蝗与束颈蝗种类非常近缘, 亲缘关系超出了形态学的种属界限, 从而对原有形态学的阶元划分提出质疑。束颈蝗属种间以及与其近缘属和远缘属的 *P* 值差异不大, 显示属间分化和同属种间分化几乎是平行发生的。目前, 与实际的进化路线相比, 无论从形态学还是从分子方面得到的结论, 都可能存在着偏差, 其原因有两个方面, 一是在系统进化关系的研究中, 分子系统发生的确定是依据 DNA 随机突变位点的检测, 形态演化则是根据表型特征的加权。前者易受检出位点所限而产生统计误差, 后者则易受趋同、选择等诸多因素的影响。二是由于 mtDNA 进化速度快, 基因位点上呈现的种内多态性也会使得到的结果与实际不尽相同, 特别是对于较高级分类阶元间的系统进化分析。在束颈蝗与其近缘属的关系及阶元划分问题上, 尚存疑点, 有待于深入研究。

分析看来, 束颈蝗属种类在形态分类研究中所表现出的复杂性主要来自两方面的原因: 一是束颈蝗种类大多分布在荒漠开阔地段, 植被少, 景观单一, 选择作用强, 造成种间在体色, 斑纹, 毛被等表型特征上的差异不明显; 二是种内又有很强的多态性。如岩石束颈蝗山地-平原中间类型的亚种 *Sphingonotus nebulosusdiscolor* 的体型大小恰好处于山地荒漠亚种和平原亚种之间。在体色和后足胫节刺的长度变化上, 砾石束颈蝗 *Sphingonotus maculatus* 于不同的亚种间也表现出突出的适应性<sup>[12]</sup>。Правдин и Мищенко (1980) 列出了束颈蝗属中 19 个种组的系统发生关系<sup>[13]</sup>。我们分析了 6 个种组中 9 个种的 mtDNA 变异, 通过比较, 我们认为我们分析的束颈蝗 9 个种可分为 3 组: 第 1 组为黑翅束颈蝗 *Sphingonotus obscuratus*, 岩石束颈蝗 *Sphingonotus nebulosus* 和黄胫束颈蝗 *Sphingonotus savignyi*。三者在形态上均属后翅有暗纹类。黑翅束颈蝗和岩石束颈蝗为中亚种, 而黄胫束颈蝗为泛古北种, 其模式产地在非洲, 与黑翅束颈蝗和岩石束颈蝗的地理渊源不同, 岩石束颈蝗和黄胫束颈蝗位于不同的演化分枝上, 以近缘属种类旋跳蝗为参照, 说明这三个种与其它种类较远。第 2 组为碱土束颈蝗 *Sphingonotus halocnemi* 和二纹束颈蝗 *Sphingonotus bifasciatus*。碱土束颈蝗在形态分枝进化上类似石砾束颈蝗 *Sphingonotus maculatus*, 雅丽束颈蝗 *Sphingonotus elegans* 和如红束颈蝗 *Sphingonotus rubscens* 的祖先型<sup>[13]</sup>。二纹束颈蝗 *Sphingonotus bifasciatus* 是黄春梅 (1982) 记述的新种<sup>[17]</sup>, 与差异较大的碱土束颈蝗聚在一起, 说明与其它的束颈蝗种类相比, 该种存在着较强的遗传异质性。第 3 组中的瘤背束颈蝗 *Sphingonotus salinus* 在形态上亦属后翅具暗纹类, 形态演化上与八纹束颈蝗 *Sphingonotus octofasciatus* 相近。分子系统树显示, 瘤背束颈蝗与这一组的其它种类相比, 分歧较早。石砾束颈蝗的体色适于不同的生态荒漠景观并由此再分为三个亚种<sup>[12]</sup>。分子系统树表明它与如红束颈蝗和雅丽束颈蝗的关系较近。

鉴于束颈蝗属种类在大西洋两岸的旧大陆和新大陆均有分布, Uvarov (1938) 提出该属为“大西洋起源”(Atlantidean Stock), 这一术语不仅强调了该属种类在美洲大陆之间与欧亚大陆之间的地理渊源和遗传联系<sup>[13]</sup>, 而且也暗示束颈蝗的属种分化经历了漫长的历史年代。

我们的结果表明,束颈蝗属种间分歧年代约在 1 000~1 500 万年前。Chapco 等(1994)估算出不同属间的种类 *Hesperotettix viridis* 和 *Phoetaliotes nebrascensis* 的分歧在 400 万年前,黑蝗属 *Melanoplus* 的种间分歧约为 200 万年。双翅目果蝇 *Drosophila* 不同种组内种间的分化时间为几百万年到上千万年不等。根据核基因 *cnpl-1* 非编码序列分歧推算草地雏蝗 *Chorthippus parallelus* 的两亚种之间的分化在 21~208 万年间<sup>[10]</sup>,由 mtDNA 多态分析得到的两亚种间的分歧约在 47 万年前的冰川期 Peistocene 的中晚期。与上述不同类群得到的结果相比,束颈蝗属种间年代分歧显然要早些。

从束颈蝗属的分布和地理历史变迁来看<sup>[13]</sup>,我们所研究的如红束颈蝗和黄胫束颈蝗在非洲也有分布,说明欧亚大陆和非洲大陆之间存在一定的地理渊源。直至中新世(距今约 2 300~1 100 万年前)西亚与非洲大陆之间方为古地中海(Tethys)隔开,这样阻隔了欧亚大陆种与非洲种之间的交流,一些原产于非洲的种类来不及回去,而成为在欧洲大陆上的遗存种,如红束颈蝗,黄胫束颈蝗和八纹束颈蝗均属此类<sup>[17]</sup>。我们估算束颈蝗属种间分歧时间大致在第三纪中新世中期,略晚于地质年代的推测。又有资料认为<sup>[23]</sup>,对于分离时间较长的(超过 1 000 万年)物种,由于回复突变的积累,用 mtDNA 分子钟计算的分离时间将偏低,因此可以推测束颈蝗种之间的分歧比估算的时间还要早些,这样,与根据地质年代的推测相比,所得结论将基本一致。

**致谢** 参加野外工作的还有新疆大学生物系杜春华,李新平,刘伟,吴卫,宋秀峰,阿孜古丽等同志,谨致谢意。

## 参 考 文 献 (References)

- 1 Brow W M *et al.* Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 1979, 79: 3 246~3 250
- 2 Brow W M *et al.* Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *J. Mol. Evol.*, 1982, 18: 225~239
- 3 Clary D O, Wolstenholme D R. The mitochondrial DNA molecular of *Drosophila yakuba*: nucleotide sequence, gene organization and genetic code. *J. Mol. Evol.*, 1985, 22: 252~271
- 4 Flook P K *et al.* The sequence, organization and evolution of the *Locusta migratoria* mitochondrial genome. *J. Mol. Evol.*, 1995, 41: 928~941
- 5 Haucke H R *et al.* Different mitochondrial gene orders among insects: exchanged tRNA gene positions in the COII/COIII region between a orthopteran and dipteran species. *Curr. Genet.*, 1988, 14: 471~476
- 6 McCracken *et al.* Structure of the cloned *Locusta migratoria* mitochondrial genome: restriction mapping and sequence of its ND-1(URF-1) gene. *Curr. Genet.*, 1987, 11: 625~630
- 7 Szymuza J M *et al.* The sequence and structure of the meadow grasshopper (*Chorthippus parallelus*) mitochondrial srRNA, ND2, COI, COII, ATPase 8 and 9 tRNA genes. *Insect Molecular Biology*, 1996, 5 (2): 127~139
- 8 George K R. Geographic structure of insect population: gene flow, phylogeography, and their uses. *Annu. Rev. Entomol.*, 1996, 41: 325~352
- 9 Chapco W *et al.* Intraspecific mitochondrial DNA variation in the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *Heredity*, 1992, 69: 547~557
- 10 Chapco W *et al.* Mitochondrial DNA variation in North American melanopline. *Heredity*, 1994, 72: 1~9
- 11 Бей-Бенко и Мищенко Л. Л. Сараячевые фауны СССР и сопредельных стран. Москва: издательство Наука, 1951, 562, 611~632

- 12 Правдин Ф. Н. Экологическая география насекомых Средней Азии. Москва: Издательство Наука, 1978, 219~230
- 13 Правдин Ф. Н и Мищенко Л. Л. Формирование и экологических фаун насекомых в Средней Азии. Москва: Издательство Наука, 1980, 24~27
- 14 Mitshenko L L. Revision of Palearctic species of the genus *Sphingonotus* Fieber. EOS, 1936, (12): 65~282
- 15 陈永林等. 新疆的蝗虫及其防治. 新疆人民出版社, 1979
- 16 陈永林等. 新疆维吾尔自治区的蝗虫研究: 蝗虫的分布. 昆虫学报, 1981, 21 (1): 17~27; 21 (2): 166~173
- 17 黄春梅. 新疆束颈蝗属及其新种. 昆虫学报, 1982, 22 (3): 296~301
- 18 黄春梅. 中国束颈蝗属 *Sphingonotus* Fieber 的地理分布. 系统进化动物学论文集, 1991, 9~19
- 19 王 文. 一种改进的动物线粒体 DNA 提取方法. 动物学研究, 1993, 14 (2): 197~198
- 20 贾振宇等. 中国大陆若干群体的黑果蝇的线粒体 DNA 多态性研究. 动物学研究, 1995, 16 (1): 65~73
- 21 Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1979, 76: 5 269~5 273
- 22 Kumar S *et al.* Molecular evolutionary genetics analysis version 1.01. Institute of Molecular Evolutionary Genetics of the Pennsylvania State University. 1993
- 23 Nei M. Molecular evolutionary genetics. New York: Columbia University Press, 1987, 230~235
- 24 Wilson A *et al.* Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. Bio. J. Linn. Soc., 26: 375~400

## PHYLOGENETIC RELATIONSHIP AMONG NINE SPECIES OF *SPHINGONOTUS* FIEBER IN DESERT AREA OF XINJIANG INFERRED FROM MITOCHONDRIAL DNA VARIATIONS

Shao Hongguang    Yan Jian    Geng Zhencheng

(Institute of Genetics, Fudan University, Shanghai 200433)

Li Guoqiang    Huang Renxin

(Department of Biology, Xinjiang University, Ürümqi 830046)

**Abstract** In this study, 11 restriction endonucleases were used to analyze the RFLP of mitochondrial DNA purified from nine species of *Sphingonotus* Fieber, *Leptopternis gracilis* which has close relationship with *Sphingonotus* and *Calliptamus italicus* which has somewhat distant relationship with *Sphingonotus*. We estimated the average number of nucleotide substitutions per site (genetic distance,  $P$ ) among these species according to the cleavage patterns and Nei & Li's models (1979). We also constructed the molecular phylogenetic trees and studied the phylogenetic relationship by the UPGMA method. These results show that the  $P$  values among the nine species of *Sphingonotus* are about 0.099 to 0.146, the  $P$  values between *Sphingonotus* and the distant genus are about 0.113~0.226. So the divergence time among the species of *Sphingonotus* would be about 10~15 million years.

**Key words** *Sphingonotus* Fieber, mitochondrial DNA variation, phylogenetic relationship